

U.S. Patent Application No. 10/604,636  
Attorney Docket No.: LASP:129US

**IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE**

Applicant: Kyra Moellmann

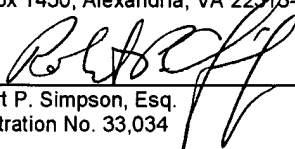
U.S. Patent Application No.: 10/604,636

Filed: 08/06/2003

Group Art Unit: 2878

**Certificate of Mailing by First Class Mail**

I certify that this Submission of Priority Document is being deposited on November 7, 2003 with the U.S. Postal Service as first class mail under 37 C.F.R. §1.8 and is addressed to the Commissioner for Patents, PO Box 1450, Alexandria, VA 22318-1450.

  
Robert P. Simpson, Esq.  
Registration No. 33,034

For: LIGHT SOURCE FOR THE ILLUMINATION OF  
MICROSCOPIC SPECIMENS, AND SCANNING  
MICROSCOPE SYSTEM

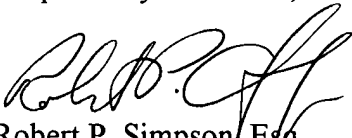
**SUBMISSION OF PRIORITY DOCUMENT**

Commissioner for Patents  
PO Box 1450  
Alexandria, VA 22313-1450

Honorable Sir:

In accordance with 35 U.S.C. 119, please find enclosed an officially certified copy of the German Patent Application No. 102 35 914.8 filed August 6, 2002, of which the above-identified application claims benefit.

Respectfully submitted,

  
Robert P. Simpson, Esq.  
Registration No. 33,034  
Attorney for Applicant(s)  
Simpson & Simpson, PLLC  
5555 Main Street  
Williamsville, NY 14221-5406  
Telephone No. 716-626-1564

RPS/LAC

Dated: November 7, 2003

# BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

---



## Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

**Aktenzeichen:** 102 35 914.8

**Anmeldetag:** 06. August 2002

**Anmelder/Inhaber:** Leica Microsystems Heidelberg GmbH,  
Mannheim/DE

**Bezeichnung:** Lichtquelle zur Beleuchtung mikrosko-  
pischer Objekte und Scanmikroskop-  
system

**IPC:** G 02 B, G 02 F, G 01 N

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 25. Juni 2003  
Deutsches Patent- und Markenamt  
Der Präsident  
Im Auftrag

Dzierzon

**Lichtquelle zur Beleuchtung mikroskopischer Objekte und**  
**Scanmikroskopsystem**

Die Erfindung betrifft eine Lichtquelle zur Beleuchtung mikroskopischer  
5 Objekte.

Ferner betrifft die Erfindung ein Scanmikroskopsystem. Im Besonderen betrifft  
die Erfindung ein Scanmikroskopsystem mit einer Strahlableitenrichtung zur  
Führung eines Beleuchtungslichtstrahles über eine Probe, einer  
Mikroskopoptik und einem Detektor.

10 Im Bereich der STED-Mikroskopie (siehe hierzu DE 44 16 558 C1 und DE 100  
63 276 A1) werden üblicherweise zwei Laser eingesetzt, nämlich einer zum  
Anregen eines Probenbereichs und ein weiterer zur Erzeugung der  
stimulierten Emission. Insbesondere zur Erzeugung der stimulierten Emission  
sind hohe Lichtleistungen und gleichzeitig eine möglichst flexible  
15 Wellenlängenauswahl erforderlich. Hierzu werden oft optisch parametrische  
Oszillatoren (OPO) eingesetzt. Für eine effiziente Frequenzkonvertierung ist  
es sinnvoll, einen OPO mit einem leistungsstarken Laser optisch zu pumpen.  
Diese sind meist modenverkoppelte Pulslaser die in der Regel sehr teuer sind.  
Hinzu kommen die Kosten für die Anregungslichtquelle, die im Normalfall auch  
20 aus einem modenverkoppelte Pulslaser besteht. Alle Laser müssen ferner  
exakt justiert werden, um die einzelnen Probenbereiche exakt zu treffen. Im  
Falle der gepulsten Anregung muss darauf geachtet werden, dass die die  
stimulierte Emission erzeugenden Lichtimpulse innerhalb eines bestimmten  
Zeitraumes, der von der Lebensdauer der angeregten Zustände des  
25 Probenmaterials abhängt, nach den Anregungslichtimpulsen eintreffen. Da die  
beiden Laserquellen von einander unabhängig sind, ist eine exakte  
Synchronisation der emittierten Laserimpulse erforderlich. Eine  
Synchronisation der Pulslaser aufeinander wird üblicherweise durch eine  
aktive Regelung erreicht. Diese ist aufwendig und funktioniert oft

unbefriedigend und instabil.

Die deutsche Patentanmeldung DE 100 56 382 offenbart eine Lichtquelle zur Beleuchtung in der Scanmikroskopie und ein Scanmikroskop. Die Lichtquelle und das Scanmikroskop beinhalten eine elektromagnetische Energiequelle, die Licht einer Wellenlänge emittiert und ein Mittel zum räumlichen Aufteilen des Lichts in mindestens zwei Teillichtstrahlen. In mindestens einem Teillichtstrahl ist ein Zwischenelement zur Wellenlängenveränderung vorgesehen. Vorteil dieser Anordnung ist, dass die Lichtimpulse in den beiden Teilstrahlen immer miteinander synchronisiert sind. Nachteilig ist dagegen, dass man zwei Teillichtstrahlen erzeugen muss, wodurch die Intensität in jedem der Teilstrahlen reduziert ist. Da die Leistung der elektromagnetischen Energiequelle, die z.B. ein Ti:Saphir-Laser sein kann, dabei aufgespalten wird, steht oftmals nicht genug Leistung für die Anwendung zur Verfügung.

Eine passive Synchronisation von Pulszügen, die von zwei verschiedenen Lasern kommen, ist z.B. in Opt. Lett., vol. 27, No. 6, p. 454, 2002 (W. Seitz et al.) offenbart. Hierin ist ein Verfahren und eine Anordnung beschrieben, zwei völlig verschiedene Laser, in dem konkreten Fall einen Ti:Saphir-Laser und einen Nd:YVO<sub>4</sub>-Laser, passiv miteinander zu synchronisieren, indem die resonatorinternen Verluste eines Slave-Lases (hier des Nd:YVO<sub>4</sub>-Lasers) durch einen Master-Laser (hier Ti:Saphir-Laser) optisch moduliert werden. Verwendet wird dazu ein nichtlinearer Fabry-Perot-Spiegel, der aus einem Halbleiter besteht, dessen Energiebandkante zwischen den Photonenenergien der beiden Laser liegt. Dieses Verfahren ist gegenüber anderen Synchronisationsverfahren besonders einfach und praktikabel. Die Druckschrift gibt jedoch keinen Hinweis, dass das System als Lichtquelle für mikroskopische Untersuchungen eingesetzt werden kann.

Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, eine Lichtquelle zur Beleuchtung mikroskopischer Objekte vorzuschlagen, bei der die Synchronisation der verwendeten Laser auf einfache Weise möglich ist.

Diese Aufgabe wird gelöst durch eine Lichtquelle zur Beleuchtung mikroskopische Objekte, die dadurch gekennzeichnet ist, dass ein erster und ein zweiter Laser vorgesehen sind, von denen jeder Licht in einen ersten

Strahlengang und in einen zweiten Strahlengang aussendet, dass ein optisches Vereinigungsmittel im ersten und im zweiten Strahlengang eingebracht ist und dass eine verschiebbare Umlenkeinheit zur Einstellung einer Weglängendifferenz zwischen dem Licht des ersten und des zweiten Lasers vorgesehen ist.

Eine weitere Aufgabe der Erfindung ist es, ein Scanmikroskopsystem vorzuschlagen, das eine große Bandbreite an Untersuchungsmöglichkeiten aufweist.

Hinsichtlich eines Scanmikroskopsystems wird die Aufgabe durch ein Scanmikroskop mit einer Strahlablenkeinrichtung zur Führung eines Beleuchtungslichtstrahles über eine Probe, einer Mikroskopoptik und einem Detektor gelöst, das dadurch gekennzeichnet ist, dass eine Lichtquelle vorgesehen ist, die einen kombinierten Lichtstrahl emittiert, der von einem ersten Laser und einem zweiten Laser emittiert ist, und dass im kombinierten Lichtstrahl das Licht des ersten Lasers mit dem Licht des zweiten Lasers synchronisiert ist.

Die Erfindung hat den weiteren Vorteil, dass zwei unterschiedliche Laser synchronisiert werden können. Dabei ist eine Synchronisation nicht nur so zu verstehen, dass sich die Pulse der zwei Laser zeitlich überlappen, sondern auch so, dass die Pulse der Laser in einer bestimmten zeitlichen Abfolge am Ort der Probe ankommen. Hinzu kommt, dass eine Messeinheit zur Ermittlung der Kreuzkorrelation vorgesehen ist, die einen Teil des Lichts des ersten Lasers und einen Teil des Lichts des dem zweiten Laser empfängt. Mit Hilfe einer Summenfrequenzmischung in einem nichtlinearen Kristall wird die Kreuzkorrelation ermittelt, die zur Ermittlung eines Stellsignals zur Einstellung der Synchronisation bzw. gezielten Verzögerung der Laserpulse des ersten und/oder zweiten Lasers nutzbar ist. Eine verschiebbare Umlenkeinheit ist zur Einstellung einer Weglängendifferenz zwischen dem Licht des ersten und des zweiten Lasers vorgesehen. Das Ergebnis dieser Verstellung kann mit der Messeinheit zur Ermittlung der Kreuzkorrelation überprüft werden.

Besonders vorteilhaft ist die Verwendung in einem Scanmikroskopsystem mit einer Strahlablenkeinrichtung zur Führung eines Beleuchtungslichtstrahles

über eine Probe. Eine Mikroskoptik und mindestens ein Detektor sind vorgesehen. Ferner ist im Scanmikroskopsystem eine Lichtquelle vorgesehen, die einen kombinierten Lichtstrahl emittiert, der von einem ersten Laser und einem zweiten Laser emittiert ist, und dass im kombinierten Lichtstrahl das Licht des ersten Lasers mit dem Licht des zweiten Lasers synchronisiert ist.

Weitere vorteilhafte Ausgestaltungen können den Unteransprüchen entnommen werden. In der Zeichnung ist der Erfindungsgegenstand schematisch dargestellt und wird anhand der Figuren nachfolgend beschrieben. Dabei zeigen:

Fig. 1 eine Lichtquelle in Verbindung mit einem Scanmikroskop gemäß dem Stand der Technik, und

Fig. 2 ein erfindungsgemäßes Scanmikroskopsystem mit einer Lichtquelle, die einfach zu synchronisieren ist.

**Fig. 1** zeigt ein Scanmikroskop in Verbindung mit einer Lichtquelle 1 gemäß dem Stand der Technik. Als elektromagnetische Energiequelle 3 ist ein einziger Puls laser vorgesehen, der als Titan:Saphir-Laser ausgeführt ist. Das Licht 17 des Puls lasers wird mit dem Mittel zum räumlichen Aufteilen des Lichts, das als Strahlteiler 5 ausgeführt ist, in einen ersten und zweiten Teillichtstrahl 19 und 21 aufgespalten. Der Teillichtstrahl 21 gelangt über den Spiegel 7 zum Zwischenelement 9, das als optisch parametrischer Oszillator ausgeführt ist. Der vom optisch parametrischen Oszillator 9 ausgehende Teillichtstrahl 23 wird über den Spiegel 11 zum dichroitischen Strahlvereiniger 13 geführt, um dort mit dem ersten Teillichtstrahl 19 zum Beleuchtungslicht 15 vereinigt zu werden, das aus der Lichtquelle 1 austritt. Die Spiegel 7 und 11 sind verkipptbar gelagert, so dass die relative Lage der Komponenten des Beleuchtungslichtes zueinander eingestellt werden. Die Lichtquelle 1 ist an ein Scanmikroskop angekoppelt. In der hier gezeigten Ausführung beinhaltet die Lichtquelle 1 im Strahlengang des Teillichtstrahles 23 neben einem optisch parametrischen Oszillator 9 ein Mittel zur Beeinflussung der Fokusform 61, das als  $\lambda/2$ -Platte ausgeführt ist und nur vom mittleren Teil des Querschnitts des Teillichtstrahles 23 durchstrahlt wird. Auch der Teillichtstrahl 19 gelangt zu

einem optisch parametrischen Oszillator 25. Der von dort ausgehende Teillichtstrahl weist eine andere Wellenlänge auf und ist mit 27 bezeichnet. Der Teillichtstrahl 23, der die  $\lambda/2$ -Platte passiert hat, wird zum dichroitischen Strahlvereiniger 13 geführt, um dort mit dem Teillichtstrahl 27 zum Beleuchtungslicht 29 vereinigt zu werden, das aus der Lichtquelle 1 austritt.

Der Beleuchtungslicht 29 wird von einem Strahlteiler 31 zur Strahlableitvorrichtung 33 reflektiert, die einen kardanischn aufgehängten Scanspiegel 32 beinhaltet, der das Beleuchtungslicht 29 durch die Scanoptik 35, die Tubusoptik 37 und durch die Mikroskopoptik 39 hindurch über bzw. durch die Probe 41 führt. Das Beleuchtungslicht 29 wird bei nicht transparenten Proben 41 über die Probenoberfläche geführt. Bei biologischen Proben 41 (Präparaten) oder transparenten Proben kann das Beleuchtungslicht 29 auch durch die Probe 41 geführt werden. Dies bedeutet, dass aus verschiedenen Fokusebenen der Probe 41 nacheinander durch das Beleuchtungslicht 29 abgetastet werden. Das Beleuchtungslicht 29 ist als durchgezogene Linie dargestellt. Das von der Probe ausgehende Detektionslicht 43 gelangt durch die Mikroskopoptik 39 und über die Strahlableitvorrichtung 33 zum Strahlteiler 31, passiert diesen und trifft auf Detektor 47, der als Photomultiplier ausgeführt ist. Das von der Probe 41 ausgehende Detektionslicht 43 ist als gestrichelte Linie dargestellt. Im Detektor 47 werden elektrische, zur Leistung des vom Objekt ausgehenden Detektionslichts 43 proportionale Detektionssignale erzeugt und an eine nicht gezeigte Verarbeitungseinheit weitergegeben. Vor dem Detektor ist ein Bandpassfilter 48 angeordnet, der Licht der Wellenlänge der Teillichtstrahlen 23 und 27 ausblendet. Das bei einem konfokalen Scanmikroskop üblicherweise vorgesehene Beleuchtungspinhole 46 und das Detektionspinhole 45 sind der Vollständigkeit halber schematisch eingezeichnet. Weggelassen sind wegen der besseren Anschaulichkeit hingegen einige optische Elemente zur Führung und Formung der Lichtstrahlen. Diese sind einem auf diesem Gebiet tätigen Fachmann hinlänglich bekannt.

**Fig. 2** zeigt eine erfindungsgemäße Lichtquelle 10 in Verbindung mit einem Scanmikroskop. Die Lichtquelle 10 besitzt einen ersten Laser 4 und einen

zweiten Laser 6. Der erste Laser 4 ist in diesem Ausführungsbeispiel als Ti:Saphir-Laser ausgebildet. Der zweite Laser 6 ist ein Nd:YVO<sub>4</sub>-Laser, der mit einem Diodenlaser 8 optisch gepumpt wird. Der Nd:YVO<sub>4</sub>-Laser umfasst einen Nd:YVO<sub>4</sub>-Kristall 12 und einen sättigbaren Absorberspiegel aus einem Halbleitermaterial, der als Sesam (semiconductor saturable absorber mirror) 14 bezeichnet wird. Zur Anpassung der Resonatorlänge kann zumindest der Sesam 14 beweglich ausgestaltet sein. Zwischen dem Nd:YVO<sub>4</sub>-Kristall 12 und dem Sesam 14 ein Fabry-Perot-Modulator 20, der als Umlenkspiegel wirkt, und ein weiterer Umlenkspiegel 20a vorgesehen. Der erste Laser 4 sendet Licht in einen ersten Strahlengang 4a aus, in dem ein Strahlteiler 18 derart angeordnet ist, dass er einen Teil des Lichts des ersten Lasers 4 auf den Fabry-Perot-Modulator 20 richtet; und zwar genau deckungsgleich zu dem Auftreffpunkt des Nd:YVO<sub>4</sub>-Lasers. Der Fabry-Perot-Modulator 20 besteht aus einem hoch reflektierenden Bragg-Reflektor (Reflexionsgrad ca. 97,5%) für die Wellenlänge 1064nm. Der Bragg-Reflektor setzt sich aus einer Abfolge von GaAs/AlAs-Halbleiterschichtpaaren zusammen, die auf ein GaAs-Substrat aufgebracht sind. Auf diesen Spiegel wiederum ist eine InGaAs epitaktisch aufgebracht. Der Zwischenraum zwischen dem Luft/InGaAs-Übergang und des InGaAs/Bragg-Reflektor-Übergangs bildet einen Fabry-Perot-Resonator. Die InGaAs-Schicht ist so gewählt, dass sie für 1064nm transparent ist, nicht aber für die Wellenlängen des Ti:Saphir-Lasers. Die Energiebandkante liegt dann typischerweise bei 970nm.

Die Resonanzfrequenz, bzw. die Energiebandkante des Fabry-Perot-Resonators ist temperaturabhängig. Im Experiment wird die Temperatur nun so gewählt, dass die Resonanzfrequenz gerade unterhalb von 1064nm (also bei einer höheren Wellenlänge) liegt. Hierzu ist eine Temperaturkontrolleinheit 36 vorgesehen. Damit ist der Fabry-Perot-Modulator 20 nicht mehr durchlässig für Licht mit einer Wellenlänge von 1064nm. Die Verluste in dem Nd:YVO<sub>4</sub>-Laser sind dann so hoch, dass der Laser nicht oszilliert. Dann wird aus dem ersten Laser 4, der auch als Master-Laser bezeichnet wird, ein kleiner Anteil mit dem Strahlteiler 18 aus dem ersten Strahlengang 4a abgezweigt und auf denselben Auftreffpunkt im Nd:YVO<sub>4</sub>-Laserstrahlengangs auf den Fabry-Perot-Modulator 20 eingestrahlt. In dem InGaAs werden dann



freie Ladungssträger erzeugt. Das führt zu einer Phasenverschiebung im Fabry-Perot-Resonator, so dass die Resonanzfrequenz zu kürzeren Wellenlängen verschoben wird. Damit sinken die Verluste in dem Nd:YVO<sub>4</sub>-Laser-Resonator und der Laser oszilliert. Nach dem Durchlauf des Ti:Saphir-Laserimpulses kommt es zu einer schnellen Rekombination der freien Ladungsträger (in der Größenordnung von 450ps) und der Ausgangszustand ist wieder hergestellt. Auf die Weise kann der Nd:YVO<sub>4</sub>-Laser im Takt des Ti:Saphir-Lasers moduliert werden. Daher spricht man auch von Master- und Slave-Laser. Der Sesam 14 sorgt dafür, dass der Nd:YVO<sub>4</sub>-Laser modengekoppelte Strahlung emittiert. Wie bereits oben erwähnt, dient der Teil des Lichts vom ersten Laser 4 zur externen, optischen Modulation. Durch eine Kontrolle und Steuerung der Temperatur des Fabry Perot-Modulators 20 kann die Resonanzfrequenz verschoben werden, was somit eine Auswahl des Arbeitspunktes ermöglicht. Der zweite Laser 6 sendet Licht in einen zweiten Strahlengang 6a aus. Das Licht im ersten Strahlengang 4a des ersten Lasers 4 wird auf eine Umlenkeinheit 22 gegeben, die in Richtung eines Doppelpfeils 26 verschoben werden kann, um somit die optischen Weglängen des Licht des ersten und des zweiten Lasers 4 und 6 anzupassen. Zwischen dem zweiten Laser 6 und dem Diodenlaser 8 ist ein Umlenkspiegel 28 vorgesehen, der als dichroitischer Spiegel ausgestaltet ist und der das Licht des zweiten Lasers 6 auf einen weiteren Umlenkspiegel 30 richtet. Vom Umlenkspiegel 30 gelangt das Licht des zweiten Lasers zu einem optischen Vereinigungsmittel 24. Von dem optischen Vereinigungsmittel 24 gelangt ein Teil des Lichts des ersten Lasers 4 und ein Teil des Lichts des zweiten Lasers 6 zu eine Messeinheit zur Ermittlung der Kreuzkorrelation 34, die zum Nachweis und zur Hilfe bei der Einstellung der Synchronisation bzw. gezielten Verzögerung der Laserpulse dient. Ein winziger Teil des Lichts des ersten Lasers 4 wird reflektiert, ein Teil von dem zweiten Laser 6 transmittiert. Beide Strahlen werden zusammen mit Hilfe einer Linse (nicht dargestellt) auf einen nichtlinearen Kristall, beispielsweise BBO ( $\beta$ -Barium-Borat), 1 mm dick, fokussiert. Dort findet eine Summenfrequenzmischung statt. (also  $\omega_{\text{Ti:Sa}} + \omega_{\text{Nd}} = \omega_{\text{Summenfrequenz}}$ ).  $\omega_{\text{Summenfrequenz}}$  liegt dann bei ca. 472nm und wird mit einem Photomultiplier gemessen, wobei die zu messende Wellenlänge mit Filtern

- herausgefiltert werden. Ein Signal wird nur gemessen, wenn sich die Pulse des ersten und des zweiten Lasers 4 und 6 sowohl zeitlich als auch räumlich überlappen. Die aus dem ersten Laser 4, dem zweiten Laser 6, dem Diodenlaser 8, der verschiebbaren Umlenkeinheit 22, dem optischen Vereinigungsmittel 24 und der Messeinheit zur Ermittlung der Kreuzkorrelation 34 bestehende Lichtquelle 10, ist zu einem Modul 10a zusammengefasst. Das Modul 10a ist an eine optische Untersuchungsanordnung für mikroskopische Objekte bzw. an das Scanmikroskop anflanschbar. Ein Computer 50, der mit einem Display 52 versehen ist, ist mit dem Modul 10a und der optischen Untersuchungsanordnung für mikroskopische Objekte bzw. dem Scanmikroskop verbunden. Der Computer 50 dient dazu, die Einstellvorgänge des Mikroskops zu überwachen und einem Benutzer auf dem Display 52 für die Einstellung relevante Daten in graphischer oder anderer lesbarer Form darzustellen.
- Wie in Fig. 2 dargestellt, gelangt der vereinigte Lichtstrahl 38 in das konfokale Mikroskop. Der erste und der zweite Laser 4 und 6 sind zwei passiv miteinander synchronisierte Ultrakurzzeitlaser die zusammen mit den entsprechenden optischen Mitteln als die Lichtquelle 10 für die Mehrphotonen-Mikroskopie, die Mehrfarben-Mikroskopie bzw. auch für die STED – Mikroskopie benutzt werden. Die Lichtquelle 10 hat den Vorteil, dass man zwei völlig verschiedene Laser (erster und zweiter Laser 4 und 6) miteinander synchronisieren kann. So ist es dann z.B. möglich die Zwei-Photonen-Absorption (TPA; Two Photon Absorption) auch mit zwei verschiedenen Photonen (jeweils unterschiedlicher Energie) und die Erzeugung der 2. und/oder 3. Harmonischen (SHG; Second Harmonic Generation und THG; Third Harmonic Generation) oder andere Mischprozesse in der Probe mit zwei verschiedenen Lasern gleichzeitig oder definiert hintereinander zu bewerkstelligen. Bei der Kopplung von einem neodymdotierten Laser, wie z.B. einem Nd:YVO<sub>4</sub>-Laser, mit einem Ti:Saphir-Laser, kann die THG mit dem Nd:YVO<sub>4</sub>-Laser erzeugt werden und TPA oder SHG mit dem Ti:Saphir-Laser. Es ist aber auch denkbar, einen Laser bei 1250nm mit einem Ti:Saphir-Laser zu synchronisieren oder andere Kombinationen. Der Ti:Saphir-Laser ist bei

dem Verfahren sogar noch in der Wellenlänge abstimmbar, was natürlich ein enormer Vorteil ist.

- 5 Für STED und andere Anwendungen könnten die Laser jeder für sich weiter konvertiert werden (OPO, Weißlichterzeugung in einer mikrostrukturierten Faser, Frequenzkonversion usw.). Auf die Weise erhält man eine universelle und leistungsstarke Lichtquelle mit großer Flexibilität und diversen Ausgestaltungsmöglichkeiten.

- 10 Die unterschiedlichen synchronisierten Laser können dann mit Zeitverzögerungs-Verfahren gezielt zeitlich aufeinander abgestimmt werden, wie es für viele Anwendungen notwendig ist. Weitere Anwendungen sind möglich, wie Mehrfarben-Mikroskopie, Pump-Probe-Experimente, Lifetime-Messungen, FLIM, FSC, konventionelle Konfokalmikroskopie. Die Ausgestaltung mit einem konfokalen Scanmikroskop ist aus der Fig. 1 zu entnehmen, so dass darauf nun nicht noch einmal eingegangen werden muss.
- 15 Die Erfindung wurde in Bezug auf eine besondere Ausführungsform beschrieben. Es ist jedoch selbstverständlich, dass Änderungen und Abwandlungen durchgeführt werden können, ohne dabei den Schutzbereich der nachstehenden Ansprüche zu verlassen.

**Bezugszeichenliste:**

	1	Lichtquelle
	3	elektromagnetische Energiequelle
5	4	erster Laser
	4a	erster Strahlengang
	5	Strahlteiler
	6	zweiter Laser
	6a	zweiter Strahlengang
10	7	Spiegel
	8	Diodenlaser
	9	Zwischenelement
	10	Lichtquelle
	10a	Modul
15	11	Spiegel
	12	Nd:YVO <sub>4</sub> -Kristall
	13	Strahlvereiniger
	14	Sesam
	15	Beleuchtungslicht
20	16	erster Strahlengang
	17	Licht
	18	Strahlteiler
	19	erster Teillichtstrahl
	20	Fabry-Perot-Modulator
25	20a	weiterer Umlenkspiegel

	21	zweiter Teillichtstrahl
	22	Umlenkeinheit
	23	Teillichtstrahl
	24	Vereinigungsmittel
5	25	optisch parametrischer Oszillator (OPO)
	26	Doppelpfeil
	27	Teillichtstrahl
	28	Umlenkspiegel
	29	Beleuchtungslicht
10	30	Umlenkspiegel
	31	Strahlteiler
	32	Scanspiegel
	33	Strahlablenkeinrichtung
	34	Messeinheit zur Ermittlung der Kreuzkorrelation
15	35	Scanoptik
	36	Temperaturkontrolleinheit
	37	Tubusoptik
	38	kombinierter Lichtstrahl
	39	Mikroskopoptik
20	41	Probe
	43	Detektionslicht
	45	Detektionspinhole
	46	Beleuchtungspinhole
	47	Detektor
25	48	Bandpassfilter

- 49 Detektor
- 50 Computer
- 52 Display
- 61 Mittel zur Beeinflussung der Fokusform



### Patentansprüche

1. Lichtquelle (10) zur Beleuchtung mikroskopischer Objekte, dadurch gekennzeichnet, dass ein erster und ein zweiter Laser (4 und 6) vorgesehen sind, von denen jeder Licht in einen ersten Strahlengang (4a) und in einen zweiten Strahlengang (6a) aussendet, dass ein optisches Vereinigungsmittel (24) im ersten und im zweiten Strahlengang (4a und 6a) eingebracht ist, und dass eine verschiebbare Umlenkeinheit (22) zur Einstellung einer Weglängendifferenz zwischen dem Licht des ersten und des zweiten Lasers (4 und 6) vorgesehen ist.
2. Lichtquelle (10) nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass sowohl der erste Laser (4) als auch der zweite Laser (6) Kurzpulslaser sind, die passiv miteinander synchronisiert sind.
3. Lichtquelle (10) nach einem der Ansprüche 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, dass eine Messeinheit zur Ermittlung der Kreuzkorrelation (34) vorgesehen ist, die einen Teil des Lichts des ersten Lasers (4) und einen Teil des Lichts des zweiten Laser (6) empfängt und zur Ermittlung eines Stellsignals zur Einstellung der Synchronisation bzw. gezielten Verzögerung der Laserpulse des ersten und/oder zweiten Lasers nutzbar ist.
4. Lichtquelle (10) nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der erste Laser (4) ein Ti:Saphir-Laser ist.
5. Lichtquelle (10) nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der zweite Laser (6) ein Nd:YVO<sub>4</sub>-Laser ist, der mit einem Diodenlaser (8) optisch gepumpt ist.

6. Lichtquelle (10) nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass der erste Laser (4), der zweite Laser (6), der Diodenlaser (8), die verschiebbare Umlenkeinheit (22), das optische Vereinigungsmittel (24) und die Messeinheit zur Ermittlung der Kreuzkorrelation (34) zu einem Modul (10a) zusammengefasst sind.
7. Lichtquelle (10) nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass das Modul (10a) an eine optische Untersuchungsvorrichtung für mikroskopische Objekte anflanschbar ist.
8. Scanmikroskopsystem mit einer Strahlablenkeinrichtung (33) zur Führung eines Beleuchtungslichtstrahles (29) über eine Probe (41), einer Mikroskopoptik (39) und einem Detektor (47), dadurch gekennzeichnet, dass eine Lichtquelle (10) vorgesehen ist, die einen kombinierten Lichtstrahl (38) emittiert, der von einem ersten Laser (4) und einem zweiten Laser (6) emittiert ist, und dass im kombinierten Lichtstrahl das Licht des ersten Lasers (4) mit dem Licht des zweiten Lasers (6) synchronisiert ist.
9. Scanmikroskopsystem nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass der erste Laser (4) einen ersten Strahlengang (4a) und der zweite Laser (6) einen zweiten Strahlengang (6a) definieren, dass ein optisches Vereinigungsmittel (24) im ersten und im zweiten Strahlengang (4a und 6a) eingebracht ist und dass eine verschiebbare Umlenkeinheit (22) zur Einstellung einer Weglängendifferenz zwischen dem Licht des ersten und des zweiten Lasers (4 und 6) vorgesehen ist.
10. Scanmikroskopsystem nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass die verschiebbare Umlenkeinheit (22) in Strahlengang des ersten Lasers (4) vorgesehen oder des zweiten Lasers (6) vorgesehen ist.
11. Scanmikroskopsystem nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Lichtquelle mit einer Messeinheit zur Ermittlung der Kreuzkorrelation (34) versehen ist, die einen Teil des Lichts des ersten Lasers (4) und einen Teil des Lichts des zweiten Lasers (6) empfängt und zur Ermittlung eines Stellsignals zur Einstellung der Synchronisation bzw. gezielten Verzögerung der Laserpulse des ersten und/oder zweiten Lasers nutzbar ist.



12. Scanmikroskopsystem nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass der erste Laser (4) der Lichtquelle (10) ein Ti:Saphir-Laser ist.

13. Scanmikroskopsystem nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass der zweite Laser (6) ein Nd:YVO<sub>4</sub>-Laser ist, der mit einem Diodenlaser (8) optisch gepumpt ist.

14. Scanmikroskopsystem nach einem der Ansprüche 7 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass der erste Laser (4), der zweite Laser (6), der Diodenlaser (8), die verschiebbare Umlenkeinheit (22), das optische Vereinigungsmittel (24) und die Messeinheit zur Ermittlung der Kreuzkorrelation (34) zu einem Modul (10a) zusammengefasst sind.

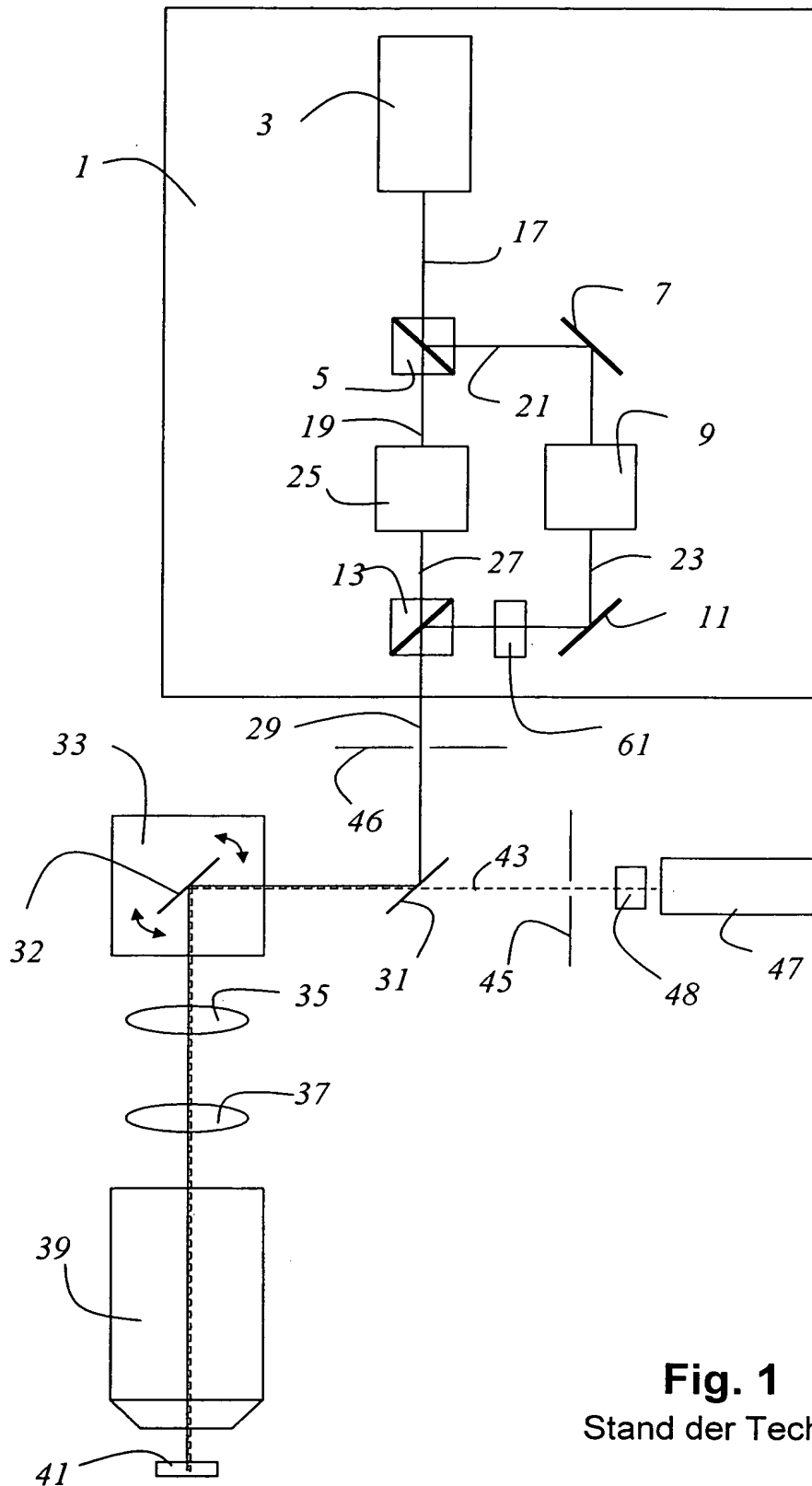
15. Scanmikroskop nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass ein Computer (50) vorgesehen ist, der mit dem Modul (10a) verbunden ist, und dass der Computer (50) ein Display (52) aufweist, auf dem für den Benutzer Einstelldaten und/oder Einstellhilfen zur Synchronisation des ersten und der zweiten Lasers (4 und 6) dargestellt sind.

### Zusammenfassung

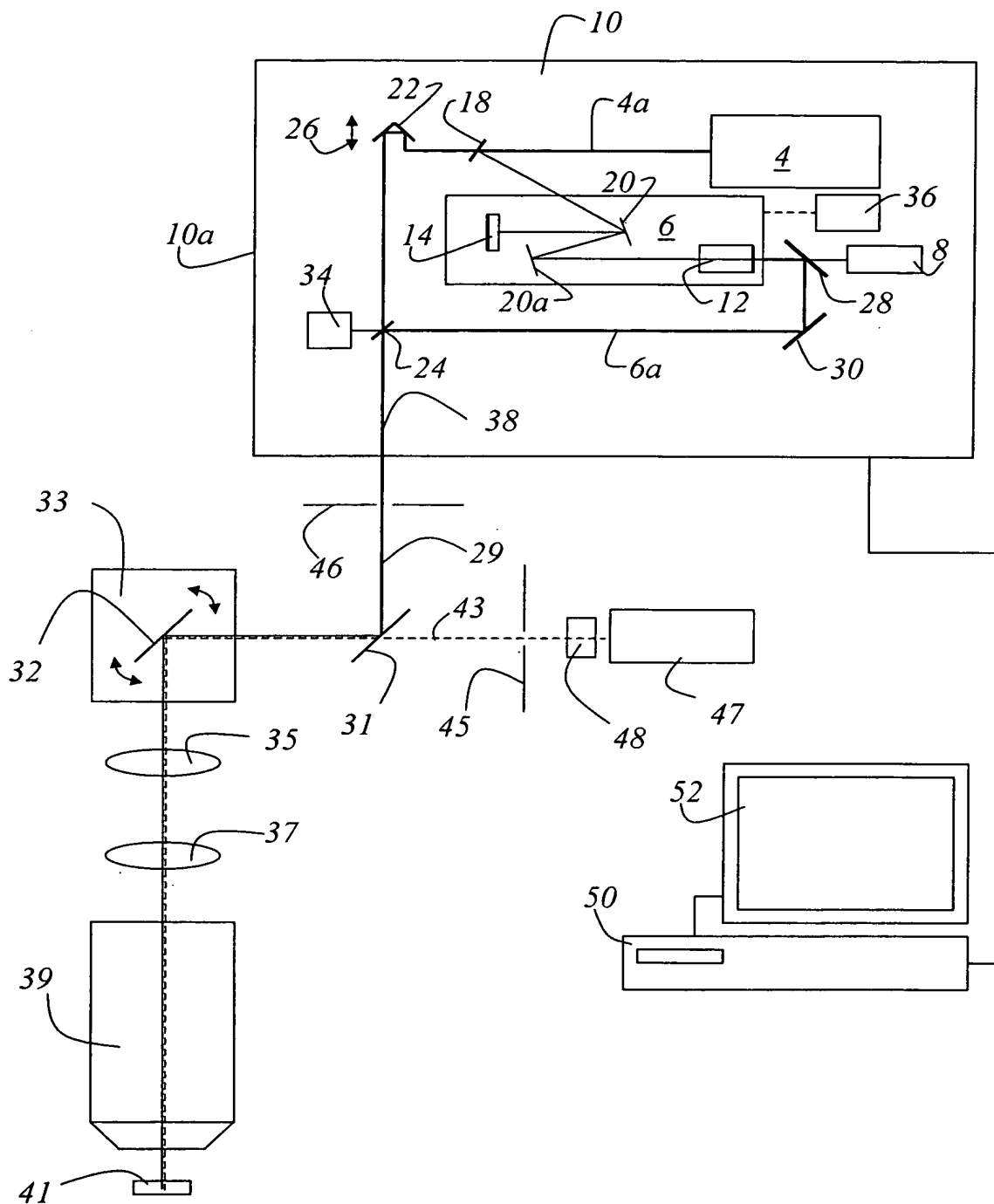
Die vorliegende Erfindung offenbart eine Lichtquelle (10) zur Beleuchtung mikroskopischer Objekte. Ebenso offenbart die Erfindung ein  
5 Scanmikroskopsystem, das eine Lichtquelle (10) besitzt. Die Lichtquelle (10) emittiert einen kombinierten Lichtstrahl, der von einem ersten Laser (4) und einem zweiten Laser (6) emittiert ist. Dabei ist im kombinierten Lichtstrahl das Licht des ersten Lasers (4) mit dem Licht des zweiten Lasers (6) synchronisiert.

10

Fig. 2



**Fig. 1**  
Stand der Technik



**Fig. 2**